Aus dem Laboratorium (Priv.-Doz. Dr. W. Schuler)
der medizinischen Universitätsklinik (Vorstand Prof. Dr. L. Müller)

Über enterale Insulinwirkung

III. Beitrag.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Hertha Rachinger

aus Forchheim.

Tag der mündlichen Prüfung: 9. August 1935.

1936

Buchdruckerei Karl Döres, Erlangen, Jägerstr. 3.

1937/168

Referent: Privatdozent Dr. W. Schuler.
Dekan: Geheimrat Prof. Dr. F. Jamin.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit.

Disposition.

Theoretischer Teil:

I. Einleitung.
II. Zusammenstellung der bisherigen wichtigsten Untersuchungen über Insulinverabreichung auf anderem als parenteralem Wege.
III. Fragesetzung und eigene Versuche:
    1. Versuche über die Schutzwirkung inaktivierter proteolytischer Fermente auf Insulin.
        a). Versuche mit Nierenextrakt.
        b). Versuche mit Milzextrakt.
        c). Versuche mit Leberextrakt.
    2. Versuche zur Ausscheidung bakterieller Wirkung durch Alkohol oder Carbolsäurezusatz.

Experimenteller Teil:

1. Versuchsreihe: Insulin zusammen mit Nierenextrakt.
2. Versuchsreihe: Insulin zusammen mit Milzextrakt.
3. Versuchsreihe: Insulin zusammen mit Leberextrakt.
4. Versuchsreihe: Insulin-Leberextraktgemisch zusammen mit Alkohol- bezw. Carbolsäurezusatz.

Zusammenfassung.

Mit der Erfindung des Insulins durch Banting und Best im Jahre 1922 ist ein großer Fortschritt in der Therapie der Zuckerkrankheit erreicht worden, da es seitdem erst möglich ist den Diabetes mellitus wirksam zu behandeln. Allerdings konnte bisher das Insulin nur bei intravenöser oder subkutaner Injektion im Körper zur Wirkung gelangen. Soweit es sich nur um leichte Fälle handelt, bei denen das Insulin meist vorübergehend verabreicht wird, machen die Injektionen keine wesentliche Schwierigkeiten. Anders ist es bei den schweren Fällen von Zuckerkrankheit, bei welchen sich die Injektionsbehandlung über Jahre erstreckt. Hier stößt der Arzt entweder nach einiger Zeit auf entschiedene Ablehnung der weiteren Injektionen oder die Injektionen werden unpünktlich und mangelhaft ausgeführt oder ganz weggelassen. Weiter besteht noch, da die Injektionen von Laienhänden ausgeführt werden, die ständige Gefahr der Injektion und durch Ueberdosierung die des hypoglykämischen Koma. Aus all diesen Gründen wäre es sehr zu begrüßen, wenn eine Art der Insulinverabreichung gefunden würde, welche diese Mängel nicht anhaften.

In den letzten Jahren wurden schon zahlreiche Versuche gemacht Ersatzstoffe für Insulin oder eine andere Art der Insulinverabreichung zu finden. Die wichtigsten Arbeiten hierüber sind nachfolgend zusammengestellt.

Mit der Frage neue peroral verabreichbare Antidiabetika als Ersatz für Insulin zu finden beschäftigten sich besonders C. Guttmann und H. Kallfels (1). Präparate wie Levurinose, ein durch Kalttrocknen hergestelltes Hefepräparat, Glukhorment, Germa — Brot, das durch seinen Gehalt an Soyabohnenmehl antiglukosurisch wirken soll, Eubetin (die wirksamen Stoffe sollen Glukochinine sein) unb schließlich Reglykol seien hier nur kurz erwähnt, da keines dieser Präparate therapeutisch verwertbar ist. Ihre Verabreichung hat teilweise dyspeptische Beschwerden zur Folge —keines bessert die Stoffwechsellage.

Bereits vor 30 bis 40 Jahren wurde von französischen Autoren die Wirkung der Verabreichung von Leber studiert. Lepine Lamoure, auch Gilbert und Carnot (2) verabreichten Leber an Diabetiker teilweise mit gutem Erfolg. Gilbert glaubte sogar auf Grund seiner Beobachtungen 2 Gruppen von Diabetikern unterseheiden zu können, erstens solche mit Leberinsufficienz, welche auf Lebergabe mit Besserung der Kohlehydrattolerarz ansprechen und zweitens Patienten mit einer Hyperfunktion der Leber, welche die Leberverabreichung mit einer Toleranzverschlechterung beantworten oder unbeeinflußt bleiben.

In neuerer Zeit wurden diese Untersuchungen von Blotner und Murphy (3) wieder aufgenommen. Auch sie berichten über günstige Resultate mit der Leberdarreichung bei einem Teil der Diabetiker, während andere ihrer Patienten jedoch unbeeinflußt blieben. Ein von denselben Autoren angegebener Extrakt aus Kalbsleber wurde 23 Diabetikern verabreicht und dabei erhebliche Blutzuckersenkungen beobachtet. Gutmann und Horwitz (4) prüften die Versuche von Blotner und Murphy nach und kamen zu dem Ergebnis, daß in der Mehrzahl der Fälle nach Lebergabe, sowohl in rohem als in gekochtem Zustand eine Toleranzverschlechterung für Kohlehydrate bei Diabetikern zu beobachten sei.

Auch Bertram, Horwitz und Wahncau (5) prüfen die Versuche mit Leberextrakt nach und verwendeten Extrakte, wie sie für die perniciöse Anämie genommen wurden, sowie den von Blotner und Murphy empfohlenen wässerigen Extrakt aus Kalbsleber. Die Versuche ergaben, daß im Vergleich mit dem Nüchternversuch sämtliche Kurven den gleichen Verlauf zeigen und daß es nach Verabreichung des Blotner—Murphy Extraktes sogar zu einem leichten Anstieg des Blutzukers kommt. Sowohl mit Leber — als mit Leberextrakt war kein Einfluß auf die Stoffwechsellage der Diabetiker nachweisbar. Aehnliche Versuche zur Nachprüfung des Blotner—Murphy Extraktes machten Brett, Broom und Howitt (6). Auch sie berichten von einem vollständig negativen Ausfall der Versuche. Ebenso erzielte H. Steinitz (7) mit dem Leberextrakt negative Resultate. Bowen (6) und Habs (7) verwendeten Rohleber, wie Leberextrakte zu Versuchen, konnten aber ebenfalls keine Wirkung feststellen. De Pencier, Soskin und Best (8) verfütterten Rohleber an normale uud pancreasektomierte Hunde, mit negativen Ergebnis.

Da alle bisherigen Versuche ein Antidiabetikum als Ersatz für Insulin zu finden scheiterten, wurden die im folgenden angeführten Versuche ausgeführt um die Frage zu klären, wie und

in welchem Teil des Verdauungstraktes das Insulin eigentlich zerstört würde.

E. Kolta und Joh. Pogany (9) wählten zu ihren Versuchen einen Abschnitt des Kaninchendarms, der selbst keine Fermente bildet, in den aber auch andererseits keine Fermente aus anderen Darmabschnitten gelangen können. Zu diesem Zwecke wurde ein Stück des Blinddarms aus dem Darmtrakt ausgeschlossen und in diesen fermentfreien Darmschnitt das Insulin gebracht. Da keinerlei Wirkung am Blutzuckerspiegel eintrat, schlossen die genannten Autoren daraus, daß schon die Eigenschaften der Darmschleimhaut bezw. des Darmsaftes genügen die Wirkung peros oder enteral gegebenen Insulins zu verhindern. Von mehreren Autoren wurden nun Versuche durchgeführt die insulininaktivierenden Faktoren der Magen—Darmschleimhaut zu finden. So glaubten Epstein und Rosenthal (10) in Reagenzglas- und Tierversuchen festgestellt zu haben, daß das Trypsin eine neutralisierende Wirkung auf das Insulin ausübt und daß dieser Prozess nicht proteolytischer Natur ist. Weiss und Pogany (11) wiesen nach, dass auch nach Ausschaltung der Trypsinwirkung oral gegebenes Insulin völlig wirkungslos blieb. Zur Vernichtung genügt demnach das Pepsin allein, jedoch nur in saurer Lösung. In einer alkalischen Lösung blieb das Insulin in vitro wirksam. Die perorale Verabreichung dieses Gemisches ergab jedoch trotzdem keine Wirkung, so daß man annehmen muß, daß neben Pepsin und Trypsin noch andere Faktoren für die Verdauung des Insulins anzuschuldigen sind. D. A. Skott, (12), sowie Brand und Sandberg (13) nehmen an, daß das Enzym nur primär eine reversible Adsorptionsverbindung mit dem Insulin eingehe, auf welche dann später eine Hydrolyse folge. Diese Annahme wird von A. Hardeneck und W. Schuler (14) abgelehnt. Genannte Autoren stellen fest, daß Pepsin- wie Trypsinkinase die hormonale Wirksamkeit bes Insulins irreversibel aufheben. Die Versuche waren abhängig von der Wasserstoffjonenkonzentration, von der Menge der Fermente und von der Dauer der Einwirkung. Außerdem konnte nach der Einwirkung von Pepsin- wie auch Trypsin Kinase eine Zunahme des formoltitrierbaren Stickstoffs festgestellt werden. Da dieses Verhalten in allen Punkten den Regeln, denen jede Verdauung unterworfen ist, entspricht, fassen Harteneck und Schuler die Einwirkung von Pepsin und Trypsin Kinase als eine Hydrolyse auf. Die Möglichkeit aber, daß die eiweißartige Substanz nur das wirksame Prinzip adsorbiert hat und dadurch aktiviert können sie nicht ausschließen, wenn es ihnen auch nicht gelungen ist durch Zu-

satz verschiedener Eiweißkörper zu einem inaktiven Verdauungsgemisch die Wirksamkeit des Insulins wieder herzustellen.

Eine Bestätigung fanden die Arbeiten von A. Hardeneck und W. Schuler durch W. Dirscherl (15), indem auch er feststellt, daß die Inaktivierung des Insulins durch Pepsin auf einem Eiweißabbau beruht. Den Beweis für die Verdauung des Insulins selbst oder ob die Inaktivierung auf der Verdauung einer eiweißartigen Substanz beruht, konnte auch er nicht erbringen.

Auch Freudenberg, W. Dirscherl, H. Eichel und F. Weiß (16) prüften die Einwirkung proteolytischer Fermente auf Insulin nach und kamen zu folgendem Ergebnis: Wird das Eiweißgerüst des Insulins nicht aufgespalten, so bleibt auch die Wirksamkeit des Insulins erhalten; findet dagegen eine Verdauung, d. h. eine Aufspaltung statt, wie dies bei Anwesenheit von Pepsin, Trypsin- Kinase, aktiviertem Kathepsin aus Leber, Nierenextrakten der Fall ist, so geht auch immer die Insulinwirksamkeit verloren.

Da enteral gegebenes Insulin somit größtenteils verdaut wird, andererseits aber das der Verdauung entgangene zur Resorption gelangen kann, lag zahlreichen neuen Versuchen der Gedanke zugrunde Schutzstoffe zu finden, die als Resorptionsvermittler eine rasche Aufnahme des Insulins vermitteln und damit eine Aufspaltung durch proteolytische Fermente verhindern sollten.

In früheren Versuchen wurde bereits von mehreren Autoren die Unwirksamkeit des von Blotner und Murphy angegebenen Extraktes aus Kalbsleber erwiesen. Bertram, Horwitz und Wahncau (17) verwendeten nun zu neuen Versuchen ein Leberextrakt - Insulingemisch und erzielten damit bei oraler Verabreichung an nüchternen Patienten beträchtliche Blutzuckersenkungen, sowie eindeutige Abschwächung des alimentären Glykosaemie bei einer auf nüchternen Magen gegebenen Kohlehydratmenge. Dagegen ergaben die Versuche an Patienten, die unter normalen Lebensbedingungen standen — d. h. bei fortgesetzter Nahrungszufuhr — ausnahmslos ein negatives Resultat. H. Steinitz (7), der bei gleicher Versuchsanordnung obige Versuche mit dem Leberextrakt - Insulingemisch nachprüfte, konnte ebenfalls keine Insulinwirkung beobachten.

R. Stephan (18) stellte die Behauptung auf, daß das Insulin nur dann peroral resorbiert werden könne, wenn es möglichst rasch zu einem Gallerückfluß und einer Gallensäure - Insulin Verbindung käme. Als Begründung dieser Behauptung wies er auf die Feststellung Wielands (18) hin, daß an sich perorale unwirksame Stoffe, wie Chinin unb Strychnin durch Gallen-

säuren oral wirksam werden. Zu seinen Versuchen verwendete Stephan ein Gemisch von Insulin mit Desoxycholsäure, das Cholosulin und berichtet von günstigen Resultaten bei Diabetikern. E. Wahncau und Bertram (19) prüften die Versuche nach mit nekativen Ergebnis. Ebenso lehnte P. Martini (20) das Cholosulin ab. Kühn (21) verwendete das Cholosulin bei Kaninchen und sah auch hier keine Wirkung.

Ein ähnliches Präparat, wie das Cholosulin sind die von W. Fornet (22) verwendeten Fornetpillen, die ebenfalls Gallensäuren als Resorptionsvermittler enthalten. F. Bertram (23) wies in zahlreichen Versuchen die völlige Wirkungslosigkeit der Fornetpillen nach.

F. Lasch und S. Brügel (24) verwendeten in ihren Versuchen Insulin + Saponinum purum und haben dabei eine hemmende Wirkung auf die fermentative Inaktivierung des Insulins durch Pepsin und Trypsin festgestellt. Sie verabreichten das Saponin an Menschen in physiologischer Kochsalzlösung mit Insulin oral und haben dabei ein starkes Abfallen des Blutzuckers beobachtet. Löwenstein und Merdinger (25) prüften obige Versuche nach und fanden mehrmals eine gute Insulinwirkung. Als Ursache für die Wirkung des Insulin-Saponingemisches nehmen Löwenstein und Werdinger, als auch F. Bertram (26) eine entzündliche Reizung der Magenschleimhaut durch das Saponin an, die zu einer Insufficienz der Magendrüsen führt. Für längere Anwendung kommt das Mittel wegen der Schleimhautschädigung also nicht in Betracht.

Die fast durchweg negativen Versuchsergebnisse bei ausschließlicher Anwendung von Resorptionsvermittlern haben den Gedanken nahegebracht, die Verdauung des Insulins durch Stoffe, die die Verdaung hemmen, zu unterbinden. In erster Linie wurde Serum, das auf Grund seines Antifermentgehaltes geeignet erschien, dem Insulin zugesetzt. (Hoffmann) (27). Die Versuchsergebnisse waren nicht einheitlich und konnten vor allem nicht bestätigt werden. Als weiteren Hemmungskörper verwendeten B. K. Harned und Thomas P. Nash jr. (28). Askaridenextrakt, da Askaris lumbrikoides durch Antiferment der Darmverdauung zu widerstehen vermag. Auch der Erfolg dieser Versuche war kein einheitlicher. Nur bei pancreaslosen Hunden gelang es einen Insulineffekt zu erzielen, doch fehlt pancreaslosen Hunden der Hauptteil des Trypsins im Darm. Eine Nachprüfung durch R. Werner (29) an normalen Kaninchen bei rektaler Zufuhr von Insulin und Eskaridenextrakt zeigte die Wirkungslosigkeit dieses Vorgehens.

Zusammenfassend läßt sich also aus der Literatur entnehmen, daß die Wirksamkeit des auf enteralem Wege zugeführte Insulin durch die Verdauung des Insulins durch proteolytische Fermente, durch die Inaktivierung durch noch unbekannte Faktoren der Darmschleimhaut und endlich durch die ungünstige Wasserstoffjonenkonzentration zu erklären ist. Gelingt es alle diese Faktoren zu umgehen, so scheint, wie aus der Literatur immer wieder ersichtlich, das Insulinmolekül trotz seiner Größe dennoch resorbierbar zu sein; doch auch diese Frage muß als noch nicht sicher geklärt betrachtet werden. Am meisten für die Resorbierbarkeit des unveränderten Insulins durch die Darmschleimhaut sprechen die schon früher im Laboratorium der Erlanger Klinik durchgeführten Versuche von R. Werner (29) und A. Hoffmann (37). Auch die Möglichkeit der Verhinderung der Verdauung von Insulin im Magen-Darmkanal haben durch die zuletzt genannten Arbeiten eine Stütze erfahren.

Alle die genannten Versuche, die weiterzuverfolgen meine Aufgabe war, gründen sich auf folgende Arbeitshypothese: Die Verdauung von Insulin durch proteolytische Fermente könnte entweder durch entsprechende Antifermente verhindert werden, oder dadurch, daß die Gruppe des Insulinmoleküls, an der die Fermente angreifen, besetzt wird. Diese Gruppe des Insulinmoleküls könnte möglicherweise durch die inaktivierten Fermente selbst besetzt werden. Als insulinzerstörende Fermente und damit in inaktivierter Form als Insulin vor der Verdauung schützende oder Antifermente kommen alle Proteasen in Betracht. Nachdem eine günstige Wirkung von inaktiviertem Pepsin vor allem durch R. Werner (29) und von inaktiviertem Trypsin durch R. Werner und J. Böhmländer (30) als Verdauungsschutz für Insulin nachgewiesen werden konnte, waren weitere Versuche darauf gerichtet inaktivierte proteolytische Fermente von Organen als Insulinschutz zu verwenden.

A. Hoffmann (27) hat Extrakte von Dickdarm- und Dünndarmschleimhautpulver, sowie von Pancreaspulver durch Kochen inaktiviert und konnte damit in mehreren Versuchen einen Schutz des Insulins vor der Verdauung an Kaninchen nachweisen. Noch nicht untersucht waren Extrakte von Milz, Niere und Leber. Daher war die mir zur Bearbeitung überlassene Fragestellung: Gelingt es unter Verwendung von Extrakten, die aus Milz-, Nieren- oder Leberpulver bereitet wurden und deren proteolytische Fermente durch Kochen inaktiviert waren, Insulin vor der Verdauung im Magen-Darmkanal zu schützen, sei es durch den Gehalt der genannten Extrakte an hitzebeständigem Antiferment oder sei

es durch die inaktivierten Fermente selbst im Sinne obengenannter Arbeitshypothese. Im Verlauf unserer diesbezüglichen Versuche wurden wir auf die Möglichkeit einer Insulin zerstörenden Wirkung der Dickdarmbakterien aufmerksam, so daß die Verhinderung dieser Wirkung als weitere Fragestellung zu bearbeiten war.

Die zur Untersuchnng herangezogenen Organe, wurden kurz nach der Schlachtung der Tiere (meistens Schweine) entnommen, zerkleinert und nach Willstätter getrocknet. Aus diesem Organpulver wurde ein Extrakt bereitet und zur Inaktivierung der Fermente aufgekocht. Hierauf wurde der aufgekochte Extrakt nach evtl. neuerlichen Filtrieren allein und zusammen mit Insulin 24 Stunden oder länger hungernden Kaninchen rektal verabreicht. Der Blutzuckcr wurde vor Verabreichung und in 1 stündigem Abstand nachher nach der Methode von H. C. Hagedorn und B. N. Jensen bestimmt. Mit dem Extrakt eines bestimmten Organes wurden immer mehrere Versuche angestellt. Die Prüfung auf die Fähigkeit des Extraktes Insulin vor der Verdauung zu schützen wurde mit verschiedenen Extraktmengen, bei verschiedener Reaktion des Insulin-Extraktgemisches und nach verschieden langer Einwirkungsdauer des Extraktes auf das Insulin vor Verabreichung durchgeführt. In unserer ersten Versuchsreihe verwendeten wir einen Extrakt aus Nierenpulver. Verschiedene Mengen desselben Insulin zugesetzt haben bei rektaler Verabreichung an Kaninchen in keinem Fall eine Aenderung des Blutzuckerspiegels erkennen lassen. Eine Schutzwirkung des Nierenextraktes auf das Insulin ist demnach auszuschließen.

Bei der nächsten Versuchsreihe wurde in verschiedenem Mengenverhältnis Insulin mit einem Extrakt aus Milzpulver verabreicht. Auch hier konnte bei keinem der Versuche eine Insulinwirkung im Sinne eines Blutzuckerabfalles beobachtet werden.

Wir haben nun eine neue Versuchsreihe durchgeführt und diesmal Leberextrakt dem Insulin zugesetzt. Es wurden wieder verschiedene Extraktmengen mit wechselnden Insulindosen gegeben. Die meisten dieser Versuche ließen ein deutliches Abfallen des Blutzuckers erkennen, es hat also eine Resorption des Insulins stattgefunden. Die Ergebnisse dieser Versuche berechtigen zu der Annahme, daß der durch Kochen inaktivierte Leberextrakt das Insulin vor der Verdauung im Magen-Darmkanal zu schützen vermag. Jedoch konnte diese Tatsache nicht an allen Versuchen nachgewiesen werden. Immer wieder waren Versuche da, bei denen die hemmende Wirkung vermißt wurde, so daß man annehmen muß, daß besondere Einflüsse, die durch den Zusatz

dieser Stoffe nicht berührt werden, vorhanden sein müssen, welche das Insulin zerstören. Wir dachten zunächst an Einflüsse auserhalb des Darms und richteten besonderes Augenmerk auf die Reaktion des zu injizierenden Leberextrakt-Insulingemisches, indem wir letzteres mehrmals in saurer und dann in alkalischer Reaktion verabreichten. Auf Grund dieser neueren Versuche kamen wir zu dem Ergebnis, daß das Insulin nur wirksam ist, wenn es in saurer Lösung injiziert wird. Die Versuche, bei denen es in alkalischer Lösung gegeben wurde, fielen ausnahmslos negativ aus. Allerdings waren auch unter den Versuchen, bei denen das Insulin in saurer Lösung injiziert wurde, verschiedene negative. Der wechselnde Ausfall der Versuche konnte nicht erklärt werden durch falsch zugesetzte Mengen, Fehler in der Darstellung, war auch nicht abhängig von der Dauer der Einwirkung auf das Insulin und man mußte auf andere Einflüsse kommen, denen das Insulin im Darmtrakt selbst ausgesetzt ist. Gerade bei rektaler Verabreichung wurde an die Wirkung der Darmbakterien gedacht. Um ihre Wirkung abzuschwächen, beziehungsweise auszuschalten, gaben wir dem Leberextrakt-Insulingemisch Alkokol bezw. Carbolsäure bei. Die Versuche dieser Reihe gingen auffallend prompt und es wurden auch größere Blutzuckersenkungswerte als in den Vorversuchen erreicht. Demnach würde unsere Ansicht, daß die Darmbakterien auf die Resorbierbarkeit des Insulins von Einfluß sind, bestätigt sein. Trotzdem erhielten wir auch jetzt keine konstanten Werte bei entsprechend gleichen Vorbedingungen. Warum auch diese Versuche nicht gleichartig ausfielen, konnte in dieser Versuchsreihe nicht nachgewiesen werden. Sicher sind dafür noch andere Einflüsse, die vom Magen-Darmkanal ausgehen, anzuschuldigen, die durch unsere Versuche noch nicht berührt wurden.

Abgesehen von einigen wenigen negativen Versuchen mit Leberextrakt ergaben doch die meisten ein deutliches Absinken des Blutzuckers, so daß man mit Recht annehmen darf, daß die Leber ein Ferment enthält, welches in inaktivierter Form das Insulin vor der verdauenden Wirkung des Magen-Darmtraktes zu schützen vermag.

Mögen unsere Versuche Anregung zu weiteren Arbeiten in dieser Richtung gehen.

Experimenteller Teil.

Die Organtrockenpulver wurden nach Willstätter folgendermaßen gewonnen:

Nieren, bezw. Milz, bezw. Leber vom Schwein wurden sofort nach der Schlachtung in Aceton gebracht, von Fett gereinigt und durch die Fleischmaschine getrieben. Der erhaltene Organbrei wurde hierauf 3 mal eine Viertelstunde in Aceton, eine Viertelstunde in halb Aceton und halb Aether und dann noch 3 mal eine Viertelstunde in Aether gebracht. Darauf wurde der Brei filtriert und einige Stunden im Exsikkator getrocknet und zu Pulver verrieben. Von dem so gewonnenen Milz-, Nieren- oder Leberpulver wurden wechselnde Mengen (z. B. 180 mg.) mit wechselnden Mengen H_2O (z. B. 15 ccm) versetzt, durch einige Tropfen Sodalösung alkalisch gemacht und einige Minuten in einer Porzellanschale gekocht. Nach dem Abkühlen wurde der Extrakt auf Lackmus neutralisiert und filtriert. Verschiedene Mengen von obigen Organextrakten wurden mit Insulin als Einlauf verabreicht. Dazu verwendeten wir einen dünnen Gummikatheter von ungefähr 15 cm Länge, den wir hoch in das Rektum der Tiere einführten. Um ein Ausfließen der Lösung zu verhindern, wurden jeweils noch wenige ccm Aqua destillata nachgespritzt.

Wir haben zu den Versuchen ausgewachsene Kaninchen, die 24, 48 oder 72 Stunden gehungert hatten, verwendet. Zunächst wurden immer durch Lehrversuche, d. H. mit dem entsprechenden Organpräparat. ohne Insulinzusatz, die Blutzuckerwerte der Tiere während der nächsten 4 Stunden in 1 stündigem Abstand bestimmt. Auserdem wurde vor jedem Versuch der Nüchternblutzucker bestimmt. Blutzuckerbestimmung nach H. C. Hagendorn und B. N. Jensen. In früheren Versuchen überzeugten wir uns, daß der Blutzucker der nüchternen Kaninchen während mehrerer Stunden konstant bleibt.

1. Versuchsreihe.

Insulin (Sandoz) wurde zusammen mit wechselnden Mengen Nierenextrakt als Einlauf verabreicht. Der Blutzucker wurde im Nüchternzustand und in 1 stündigem Abstand innerhalb der ersten 4 Stunden nach Verabreichung bestimmt.

1. Versuch.

(Kaninchen Nr. 5 und 7, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
a) Leerversuch: 5 ccm Nierenextrakt = 60 mg Pulver rektal	84	94	97	90	89
b) Vollversuch: 5 ccm Nierenextrakt = 60 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) rektal	100	99	90	99	101

2. Versuch.

(Kaninchen Nr. 2 und 3, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
a) Leerversuch: 5 ccm Nierenextrakt = 120 mg Pulver rektal	84	83	89	87	92
b) Vollversuch: 5 ccm Nierenextrakt = 120 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz)	97	93	90	90	104

2. Versuchsreihe.

Es wurden geringe Mengen Insulin mit wechselnden Mengen Milzextrakt verwendet, die ebenso wie der Nierenextrakt rektal verabreicht wurden. Darstellung des Extraktes wie oben.

1. Versuch.

(Kaninchen Nr. 11 und 15, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
a) Leerversuch: 5 ccm Milzextrakt = 120 mg Pulver rektal	105	101	99	103	103
b) Vollversuch: 5 ccm Milzextrakt = 120 mg Pulver = 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz)	77	84	85	84	80

2. Versuch.

(Kaninchen. Nr. 5 und 14, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
a) Leerversuch: 5 ccm Milzextrakt = 120 mg Pulver rektal	136	133	136	136	142
b) Vollversuch: 5 ccm Milzextrakt = 120 mg Pulver = 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz)	145	146	147	147	147

3. Versuchsreihe.

In dieser unserer Hauptversuchsreihe verwendeten wir Leberextrakt als Beigabe zu Insulin. Der Leberextrakt wurde wie die vorher verwendeten Nieren-, bezw. Milzextrakte dargestellt. Zunächst wurde wieder Leberextrakt ohne Insulinzusatz gegeben, wobei kein Abfallen des Blutzuckers beobachtet wurde. Dagegen zeigten die Versuche mit dem Leberextrakt-Insulingemisch in den meisten Fällen ein deutliches Abfallen des Blutzuckerspiegels. Es wurden wechselnde Leberextraktmengen mit verschiedenen Insulindosen gegeben.

1. Versuch.

(Kaninchen Nr. 15, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextraktrektal	106	108	114	111	104

2. Versuch.

(Kaninchen Nr. 13 und 16, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
a) Leerversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver	106	102	104	110	112
b) Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 2 ccm Insulin = 20 E (Trockeninsulin)	107	54	96	96	104

Maximalblutzuckerabfall: 53 mg %.

3. Versuch.
(Kaninchen Nr. 13, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Bayer)	98	73	100	106	109

Maximalblutzuckerabfall: 25 mg %.

4. Versuch.
(Kaninchen Nr. 4, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 1,5 ccm Insulin = 60 E (Bayer)	94	87	91	86	88

5. Versuch.
(Kaninchen Nr. 5, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Bayer)	91	83	101	101	91

6. Versuch.
(Kaninchen Nr. 15, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz)	96	83	96	99	95

Maximalblutzuckerabfall: 13 mg %.

7. Versuch.
(Kaninchen Nr. 2, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz)	96	94	94	98	93

8. Versuch.

(Kaninchen Nr. 14, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 15 ccm Leberextrakt = 180 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz) Alkalische Reaktion. Lösung nach Zugabe des Insulins stark flockig getrübt.	95	97	100	100	94

9. Versuch.

(Kaninchen Nr. 17, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberlösung + 60 mg Pulver + 2 ccm Insulin = 40 E (Trockenins). Saure Reaktion.	94	75	83	91	91

Maximalblutzuckersenkung: 19 mg%.

10. Versuch.

(Kaninchen Nr. 12, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 2 ccm Insulin = 20 E (Trockenins). Alkalische Reaktion.	87	88	83	87	88

11. Versuch.

(Kaninchen Nr. 2, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 30 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) Saure Reaktion.	101	88	106	115	109

Maximalblutzuckersenkung: 13 mg%.

12. Versuch.
(Kaninchen Nr. 15, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 40 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) Saure Reaktion.	102	70	91	91	95

Maximalblutzuckerabfall: 32 mg%.

13. Versuch.
(Kaninchen Nr. 16, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 40 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz) Angedeutet saure Reakt.	84	94	86	96	93

14. Versuch.
(Kaninchen Nr. 2, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 40 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz) Saure Reaktion.	102	81	100	100	100

Maximalblutzuckerabfall: 21 mg%.

15. Versuch.
(Kaninchen Nr. 10, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 5 ccm Leberextrakt = 30 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) Alkalische Reaktion.	129	131	117	123	127

4. Versuchsreihe.

Wir verwendeten in den bisherigen Versuchen stets Kaninchen, die 24 Stunden gehungert hatten. Im Folgenden werden auch Tiere welche 48 bezw. 72 Stunden nüchtern waren, verwendet. Außerdem wurden dem Leberextrakt-Insulingemisch verschiedene Mengen Alkohol, bezw. Carbolsäure zugesetzt, um die Bakterienflora des Darms auszuschließen. Die übrige Versuchsanordnung ist dieselbe wie in den bisherigen Versuchen.

1. Versuch.

(Kaninchen Nr. 10, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 40 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz) Saure Reaktion.	136	111	108	119	126

Maximalblutzuckerabfall: 28 mg%.

2. Versuch.

(Kaninchen Nr. 15, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 40 mg Pulver + 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz) Saure Reaktion.	110	79	92	104	114

Maximalblutzuckerabfall: 31 mg%.

3. Versuch.

(Kaninchen Nr. 14, 72 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
7,5 ccm Leberextrakt = 60 mg Pulver + 1,5 ccm Insulin = 60 E (Sandoz) Saure Reaktion.	98	66	109	109	108

Maximalblutzuckerabfall: 32 mg%.

4. Versuch.
(Kaninchen Nr. 10, 24 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 40 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) Saure Reaktion.	104	106	96	108	107

5. Versuch.
(Kaninchen Nr. 2, 48 Stunden gehungert).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 70 mg Pulver + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) Sehr saure Reaktion.	96	56	57	62	87

Maximalblutzuckerabfall: 40 mg %,

Versuche mit Alkoholzusatz.

6. Versuch.
(Kaninchen Nr. 15, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Leerversuch: 1,5 ccm Alkohol 5 ccm H_2O	91	110	128	124	101

7. Versuch.
(Kaninchen Nr. 18, 48 Stunden gehungert).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch: 7 ccm Alkohol (96 % ig) + 1 ccm Insulin = 40 E (Sandoz)	90	64	78	91	95

Maximalblutzuckerabfall: 26 mg %.

8. Versuch.
(Kaninchen Nr. 19, 48 Stunden gehungert).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
Vollversuch:					
2,5 ccm Leberextrakt = 40 mg P. + 6 mg Insulin = 40 E + 0,5 ccm HC1 + 7 ccm Alkohol (96%)	114	82	96	101	106

Maximalblutzuckerabfall: 32 mg%.

An den beiden Kaninchen der Versuche 7 und 8 zeigten sich innerhalb der ersten Stunden schon Symptome eines tiefen Rausches, der schließlich in eine vollständige Lähmung der Extremitäten mit Aufhebung des Muskeltonus überging. Nach 3 Stunden hatten sich die Tiere wieder so weit erholt, daß sie sitzen konnten. Beide Kaninchen sind nach 4 Tagen eingegangen. Sektionsbefund: nekrotisierende Enteritis und diffuse Peritonitis.

In den folgenden Versuchen wurde Alkohol in geringerer Konzentration verwednet.

9. Versuch.
(Kaninchen Nr. 6, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leber = 40 mg P. + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) + 3 ccm Alkohol (96%ig)	102	73	85	93	99

Maximalblutzuckerabfall: 29 mg%.

10. Versuch.
(Kaninchen Nr. 2, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 40 mg P. + 1,5 ccm Alkohol (96%ig) + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz)	113	83	97	109	106

Maximalblutzuckerabfall: 30 mg%.

11. Versuch.
(Kaninchen Nr. 14, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leber = 40 mg P. + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) + 0,75 ccm Alkohol (96 % ig)	110	80	73	75	75

Maximalblutzuckerabfall: 30 mg %.

12. Versuch.
(Kaninchen Nr. 7, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 40 mg P. + 0,25 ccm Insulin = 10 E (Sandoz) + 1,5 ccm Alkohol (96 % ig)	109	88	90	98	108

Maximalblutzuckerabfall: 21 mg %.

13. Versuch.
(Kaninchen Nr. 13, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std
5 ccm Leberextrakt = 40 mg P. + 0,12 ccm Insulin = 5 E (Sandoz) + 0,75 ccm Alkohol (96 % ig)	112	103	100	96	104

14. Versuch.
(Kaninchen Nr. 23, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 50 mg P. + 0,5 ccm Insulin = 20 E (Sandoz) + 2 ccm Alkohol 96 % ig)	112	54	88	93	97

Maximalblutzuckerabfall: 58 mg %.

Zusatz von Carbolsäure.

15. Versuch.
(Kaninchen Nr. 11, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 40 mg P.					
+ 0,5 ccm Insulin					
= 40 E (Sandoz)					
+ 1 ccm Carbolsäure (5%ig)	101	74	76	80	56

Maximalblutzuckerabfall: 27 mg%.

16. Versuch.
(Kaninchen Nr. 21, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 70 mg P.					
+ 0,5 ccm Insulin					
= 20 E (Sandoz)					
+ 1,7 ccm Carbollösg. (5%ig)	100	75	87	92	96

Maximalblutzuckerabfall: 25 mg%.

17. Versuch.
(Kaninchen Nr. 24, 48 Stunden nüchtern).

	nüchtern	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.
5 ccm Leberextrakt = 50 mg P.					
+ 0,5 ccm Insulin					
= 20 E (Sandoz)					
+ 2 ccm Alkohol (20%ig)					
+ 1,7 ccm Carbolsäure (1,3%ig)	108	65	72	93	109

Maximalblutzuckerabfall: 43 mg%.

Zusammenfassung.

Vorliegende Arbeit beschäftigte sich damit einen wirksamen Schutzstoff zu finden, der das enteral gegebene Insulin vor der Verdauung zu schützen vermag. Während wir eine solche Wirkung durch inaktivierten Extrakt von Nieren- bezw. Milzpulver ausschließen konnten, fanden wir in inaktiviertem Extrakt aus Leberpulver einen Schutzstoff, der das Insulin vor der Verdauung schützt, so daß es seine physiologische Wirksamkeit im Magen-Darmkanal entfalten kann. Wir haben dann unsere Versuche dahingehend erweitert, durch Variation in der Leberextrakt-, bezw. Insulinmenge eine bestimmte konstante Größe des Blutzuckerabfalls zu erreichen, was uns jedoch nicht gelungen ist. Um die Wirkung der Darmbakterien auszuschließen wurde dem Leberextrakt-Insulingemisch Alkohol, beziehungsweise Carbolsäure zugesetzt, wobei sich ein auffallend prompter Ausfall der Versuche zeigte. Doch war auch damit die Frage nicht geklärt, warum immer wieder Versuche da waren, welche bei gleichen Vorbedingungen schlechtere Ergebnisse zeitigten. Welcher Art die Einflüsse noch sein könnten, denen das Insulin im Magen Darmtrakt ausgesetzt ist, konnte in unseren Versuchen nicht festgestellt werden. Die Ansicht, daß enteral gegebenes Insulin vom Magen Darmkanal aus resorbiert werden kann, hat durch unsere Arbeit eine wesentliche Stütze erfahren. Mögen unsere Versuche ein Ansporn sein zu weiteren Arbeiten in dieser Richtung, die dann schließlich zu einem enteral verabreichbaren Insulinpräparat führen

Herrn Priv. Doz. Dr. W. Schuler möchte ich für die Überlassung des Themas und für die freundliche Unterstützung bei Ausführung der Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis.

1. C. Guttmann und Kallfels: Klin. Wochenschrift. 1929, 2246.
2. Bertram und Wahncau: Klin. Wochenschrift. 1931, 486.
3. Blotner und Murphy: Journal americ. med. Assoc. 92, 1332 (1929)
4. Gutmann und Horwitz: Klin. Wochenschrift. 1931, 591.
5. Bertram, Horwitz und Wahncau: Klin. Wchschrft. 1931, 1162.
6. Brett, Broom und Horwitz, Lancet 220, 21 (1931)
7. H. Steinitz: Klin. Wochenschrift. 1932, 192.
8. Zitiert in Lancet 220, 20 (1931).
9. E. Kolta und Joh. Pogany: Klin. Wochenschrift. 1929, 937.
10. Epstein und Rosenthal: Journ. americ. med. Assoc. I 1924, 1990.
11. Zeitschrift f. d. ges. exper. Med. 50, 768 (1926).
12. Journal of Biol. Chem. 57, 425 (1923).
13. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 20, 428 (1925).
14. Hoppe-Seylers Ztschrft f. physiol Chemie 172, 289 (1927).
15. Dieselbe Zeitschrift 181, 219 (1929).
16. Dieselbe Zeitschrift 202. 159 (1931).
17. Bertram, Horwitz und Wahncau: Klin. Wchschrft. 1931, 1214.
18. R. Stephan: Münchn. Med. Wochenschrft. 1929, 1579.
19. E. Wahncau und F. Bertram: Klin. Wochenschrft. 1931, 486.
20. P. Martini und W. Nagel: Münchn. Med. Wchschrft. 24,1009 (1930).
21. Kühn, Dtsch. med. Wochenschrft. 1930, 1341.
22. W. Fornet, Wien. klin. Wochenschrft. 28,1109 (1926).
23. F. Bertram und E. Wahncau: Klin. Wochenschrft. 1931, 486.
24. F. Lasch und S. Brügel: Biochem. Zeitschrft. 181, 109 (1927).
25. Löwenstein und Merdinger: Wien Arch. f. inn. Med. 14,523 (1927).
26. F. Bertram, Klin. Wochenschrft. 26,1209. (1928).
27. A. Hoffmann, Dissertation Erlg. 1935.
28. Journ. biol. 97,443 (1932).
29. R. Werner, Dissertation Erlg. 1934.
30. J. Bömländer, Dissertation Erlg. 1935.

Lebenslauf.

Ich wurde am 17. Juli 1906 als Tochter des Kaufmanns Karl Rachinger zu Forchheim geboren. Nach Besuch der 7klassigen Volksschule trat ich in die 3. Klasse des Progymnasiums Forchheim ein und blieb an genannter Anstalt bis Ende der 4. Klasse. Die 5. und 6. Klasse der Realschule besuchte ich an der Oberrealschule Erlangen. Anschließend setzte ich 4 Jahre aus. Am 1. Mai 1927 trat ich in die 7. Klasse der Oberrealschule Erlangen, machte am Ende des Schuljahrs die Aufnahmeprüfung in die 9. Klasse, die ich auch bestand und erhielt am 23. März 1929 das Reifezeugnis. Im Mai 1929 bezog ich die Universität Erlangen, wo ich mit Ausnahme 2er Semester in Graz und Innsbruck bis zum Ende des medizinischen Studiums verblieb. Im W.-S. 1934/35 machte ich das medizinische Staatsexamen an der Universität Erlangen.